

Étude de la brucellose bovine dans un village de Basse-Casamance (Sénégal)

II. — Diagnostic allergique

par R. FENSTERBANK (*), M. P. DOUTRE (**) et F. SAGNA (**)

RÉSUMÉ

Un allergène protéique purifié est utilisé par voie intradermique pour le diagnostic de la brucellose sur 388 bovins d'un village de Basse-Casamance. L'examen clinique et la sérologie classique sont effectués conjointement. Les résultats montrent que dans cette enquête le test allergique a été moins précis que l'épreuve au Rose Bengale. Cette discordance est expliquée. Néanmoins, le test allergique, qui évite les prises de sang, donne une indication valable sur la prédominance de la maladie. Son emploi est recommandé lors d'études épidémiologiques menées en pays tropicaux, seul ou associé à l'épreuve au Rose Bengale, selon la précision recherchée.

Les *Brucella*, comme le bacille tuberculeux et de nombreux autres germes pathogènes, provoquent chez l'animal qu'elles infectent un état de sensibilisation qui peut être révélé par l'injection d'un allergène préparé à partir de ces mêmes germes.

Les premiers allergènes brucelliques étaient obtenus, comme la tuberculine, à partir de bouillons de culture de *Brucella abortus* (abortine de M'FADEYEAN et STOCKMAN (32), ou de *Brucella melitensis* (mélitine de BURNET (5)). Ces allergènes donnent des résultats satisfaisants sur le plan du diagnostic mais présentent l'inconvénient de provoquer des réactions d'hypersensibilité de type mixte, immédiat et retardé, parfois cliniquement graves, et une élévation des titres en anticorps. Les recherches ultérieures ont eu pour but d'obtenir des produits purifiés afin de pallier ces inconvénients.

Grâce aux travaux de BONGHIBHAT, ELBERG et CHEN (3) et à ceux de JONES, DIAZ et TAYOR (24), nous disposons maintenant d'un allergène, la brucelline, donnant une réaction d'hypersensibilité de type retardé, ne sensibilisant pas et ne provoquant pas la formation d'anticorps décelables par la sérologie de routine. Les expérimentations sur ovins (25) et sur bovins (17, 16) en ont précisé les modalités d'utilisation et la validité des résultats. Confirmant les résultats obtenus sur cobaye, elles ont également montré que ce produit peut être employé plusieurs fois successives sur le même animal sans crainte de perturber le dépistage ultérieur par les épreuves allergiques ou sérologiques.

Pour un diagnostic individuel, le test allergique doit être associé aux autres épreuves de routine (16, 29). Pour un dépistage sur de grands effectifs, il peut être utilisé seul si l'on désire simplement déterminer l'existence de la brucellose et estimer l'importance de l'infection. D'exécution facile, il est un instrument de choix pour l'épidémiologiste. Dans les pays tropicaux où se posent des problèmes de transport des prélèvements de sang et d'équipement des labo-

(*) Station de Pathologie de la Reproduction. Centre de Recherches de Nouzilly (I. N. R. A.) 37380 Monnaie, France.

(**) Laboratoire National de l'Elevage et de Recherches Vétérinaires (I. S. R. A.) B. P. 2057, Dakar-Hann, (Rép. du Sénégal).

ratoires, l'emploi de la brucelline utilisée seule constituerait un avantage pour le dépistage de la brucellose.

Au cours d'une enquête menée dans une région du Sénégal, la Casamance, dont le but et les conditions ont été décrits (1^{re} partie), nous avons utilisé conjointement le test allergique et les épreuves sérologiques pour comparer l'intérêt des diverses méthodes de diagnostic et proposer, en fonction de la précision voulue, différents protocoles simples de dépistage de la brucellose.

MATERIEL ET METHODES

1) Animaux

Dans le village de Kartiack, 388 bovins de race Ndama, répartis dans 12 troupeaux, ont fait l'objet d'une prise de sang en vue du diagnostic sérologique de la brucellose (1^{re} partie). Simultanément, ils ont reçu une injection de brucelline.

2) Allergène

La brucelline (lot 73-1), préparée à la Station de Pathologie de la Reproduction de l'I.N.R.A. à partir de la souche *rough Brucella melitensis* B 115, selon la méthode de JONES, DIAZ et TAYLOR (24), est un allergène de nature protéique, non toxique, ne donnant pas de réaction sur animaux non sensibilisés, ne produisant pas de sensibilisation, ni la formation d'anticorps décelables par la sérologie de routine (17). Le produit, lyophilisé, est dissout, au moment de l'emploi, dans une solution salée isotonique stérile et utilisé à la concentration de 100 µg pour 0,1 ml de solvant, dose pour un bovin (17).

3) Exécution du test

Chaque animal reçoit la brucelline à l'encolure, par voie intradermique. Le lieu d'injection est repéré au moyen d'un crayon marqueur à défaut d'une marque au ciseau, impossible à réaliser du fait de la faible longueur des poils.

Les animaux sont examinés 72 h plus tard. L'intensité des réactions est appréciée en fonction du degré d'induration et d'œdème de la peau au niveau de l'injection. Les appréciations cliniques sont notées de 1 à 3 : la note 1 correspond à une réaction faible, à la limite de la

détection, la note 2, à une réaction d'intensité moyenne et la note 3, à une réaction intense ou très intense, avec parfois une zone de nécrose.

RESULTATS

Résultats de l'épreuve allergique

Au moment de la lecture, 362 animaux seulement ont été examinés, 26 n'ayant pas été présentés. Trente-trois réagissent à la brucelline (9,1 p. 100) et la moyenne des notes attribuées aux réactions est de 2,1. Des réactions allergiques sont observées dans 7 troupeaux sur 12. Dans quatre, la fréquence des réactions est élevée : 30,5 p. 100 dans le troupeau n° 1, 13,3 p. 100 dans le n° 5, 10,6 p. 100 dans le n° 8 et 9,8 p. 100 dans le n° 2. Trois troupeaux (n° 3, 4 et 12) ont chacun un seul réagissant et 5 (n° 6, 7, 9, 10 et 11) aucun.

Comparaison avec les résultats de la sérologie

Les résultats de la séro-agglutination (S. A. W.), de la fixation du complément (F. C.) et de l'épreuve au Rose Bengale (R. B. T.) ont été donnés dans l'article précédent (1^{re} partie) : 58 animaux ont été trouvés positifs, 49 simultanément par les trois épreuves, 7 par le R. B. T. seul et deux par la F. C. seule.

Parmi les 33 animaux ayant réagi à la brucelline, 27 sont positifs en sérologie et 6, négatifs. Trente bovins à sérologie positive ne présentent pas de réaction allergique et un, positif aussi en sérologie, était absent au moment de la lecture des réactions (tabl. I).

TABL. N°I-Comparaison des résultats des épreuves allergiques et sérologiques

Allergie	Sérologie	Nombre d'animaux
+	+	27
-	+	30
+	-	6
-	-	299
Absents au moment de la lecture des réactions	+	1
	-	25
	Total	388

TABL. N°II-Résultats, par troupeau, des examens sérologiques, allergiques, bactériologiques et cliniques.

Troupeau	Sérologies positives Animaux prélevés	Réactions allergiques Animaux examinés	Animaux infectés (1)	Bactériologie (2)	Clinique	
					hygromas (3)	Avortements (4)
1	18/36	11/36	19/36	3	4	5
2	7/41	4/41	7/41			
3	0/28	1/28	1/28			
4	0/24	1/22	1/34			
5	22/78	10/75	23/78	5	6	6
6	1/19	0/19	1/19			
7	0/14	0/13	0/14			
8	7/54	5/47	8/54	3	3	
9	0/6	0/6	0/6			
10	0/7	0/7	1/7			
11	1/44	0/36	1/44	1	1	
12	1/37	1/32	2/37			
Total	58/388	33/362	64/388	12	14	11

(1) Proportion d'animaux reconnus infectés par l'ensemble des épreuves allergiques et sérologiques;

(2) Nombre d'isollements de *Brucella abortus* ;

(3) Nombre d'animaux présentant un hygroma ;

(4) Nombre de vaches ayant avorté (d'après les commémoratifs).

Dans les 4 troupeaux où la proportion d'animaux réagissant à la brucelline est élevée, celle des animaux positifs en sérologie l'est également. Dans les 3 troupeaux contenant chacun un seul réagissant, 1 animal sur 89 est positif en sérologie et quelques autres présentent des titres bas en S. A. W. Dans les 5 troupeaux où aucune réaction allergique n'est observée, 3 animaux sur 90 sont positifs en sérologie (tabl. II).

Comparaison avec les résultats des observations cliniques et de la bactériologie

Quatorze animaux présentent un hygroma du genou (1^{re} partie) et neuf réagissent à la brucelline. Onze vaches avaient avorté et 9 présentent une réaction allergique. Parmi les 14 animaux chez lesquels *Brucella abortus* a été isolée, 9 réagissent à la brucelline.

Résultats globaux

Soixante-quatre animaux sur 388 (16,5 p. 100) sont positifs à l'une au moins des épreuves allergiques, bactériologiques et/ou sérologiques : 27 le sont simultanément aux épreuves allergiques et sérologiques, 22 autres à l'ensemble des épreuves sérologiques, 7 de plus

au R. B. T. seul, 6 de plus au test allergique seul et 2 par la F. C. seule.

Des animaux infectés ont été trouvés dans 10 troupeaux ; seuls, les troupeaux n° 7 et 9 n'en contiennent pas.

DISCUSSION

Sur les animaux du village de Kartiack, les réactions allergiques, caractérisées par une induration et un épaissement de la peau, avec de l'œdème et parfois une zone de nécrose, sont en moyenne plus intenses que celles notées au cours d'enquêtes précédentes (moyennes respectives : 2, 1 et 1,64) (16).

Vingt-sept animaux sont positifs simultanément aux épreuves allergiques et sérologiques. N'ayant jamais reçu de vaccin antibrucellique qui aurait pu les sensibiliser ou provoquer la formation d'anticorps, ces animaux sont considérés comme infectés.

Six animaux présentent une réaction allergique et sont négatifs en sérologie. Cette discordance entre les résultats des différentes épreuves est connue (16, 26, 29, 38). Elle pose le problème de la signification de la sérologie et de la réaction d'hypersensibilité. D'une part, la

sérologie ne dépiste pas tous les animaux infectés et l'interprétation des faibles titres en agglutinines est parfois difficile (13, 41). D'autre part, la réaction à la brucelline est spécifique et signifie que l'animal réagissant a été en contact avec des *Brucella* qui ont pu, ou non, déclencher la maladie, et l'animal infecté a pu guérir. L'existence de l'infection brucellique chez les animaux à sérologie négative et réagissant à la brucelline, déjà démontrée par KAS'YANOV (26), est à nouveau mise en évidence ici par l'isolement de *Brucella* chez la vache n° 159 qui avait avorté 3 fois et dont le sérum était, au moment de l'enquête, négatif aux épreuves de S. A. W., F. C. et R. B. T.

Trente animaux, positifs en sérologie, ne présentent pas de réaction allergique. Cette absence de réponse à la brucelline rappelle le phénomène de l'anergie, déjà connu avec la tuberculine. Il est signalé par les auteurs ayant utilisé un allergène brucellique (16, 26, 29, 38). Sa fréquence est cependant plus élevée que lors de nos enquêtes précédentes (respectivement : 50 et 25 p. 100 environ des animaux positifs aux différentes épreuves) (16). Il semble que les réactions intenses ont été bien lues, mais que des réactions de faible intensité ont échappé à l'observateur. La différence entre les moyennes des notations données dans cette enquête et dans les précédentes tend également à le démontrer. Ces omissions nous paraissent dues à deux causes :

- 1) Au moment de la lecture, le repérage du lieu d'injection avait disparu chez presque tous les animaux. Devant l'impossibilité de marquer aux ciseaux le lieu d'inoculation de la brucelline, nous avons envisagé d'exécuter le test au pli sous-caudal où le repérage est facile (17). L'épaisseur et la dureté de la peau à cet endroit, chez les animaux de race Ndama, ne nous l'ont pas permis ;

- 2) Un examen méticuleux n'a pas été possible dans certains troupeaux où la contention était insuffisante.

Une partie de l'information a sans doute été perdue ainsi, car toutes les réactions quelle que soit leur intensité, doivent être notées. Néanmoins, le test allergique utilisé seul a montré l'existence de la brucellose dans le village de Kartiack et de plus, la fréquence des réactions dans un troupeau a permis d'avoir une indication sur la gravité de l'infection au sein de

ce même troupeau, résultats globalement confirmés par ceux de la sérologie. Enfin, la majorité des animaux présentant un hygroma et des vaches ayant avorté ont réagi à la brucelline.

La carte de la brucellose au Sénégal, document préliminaire indispensable à toute entreprise de prophylaxie, pourrait être dressée à partir des résultats de sondages répartis sur tout le territoire. Le diagnostic par les épreuves sérologiques faites au laboratoire (S. A. W. et F. C.) est classique, mais le transport des prélèvements de sang et l'équipement des laboratoires posent des problèmes techniques et économiques importants. Les tests de diagnostic pouvant être exécutés sur place paraissent préférables : c'est pourquoi plusieurs auteurs ont utilisé le ring test sur laits individuels (2, 3, 20, 22, 30, 39, 43). Cette épreuve est efficace, facile à exécuter et économique, mais ne concerne que les vaches en lactation, donc une partie réduite de la population bovine. Aussi avons-nous proposé le test au Rose Bengale (1^{re} partie) qui, utilisé seul, a dépisté 56 des 64 (87,5 p. 100) animaux reconnus infectés par l'ensemble des épreuves utilisées. L'information est suffisante pour un sondage et même supérieure, dans cette enquête, à celle donnée par les épreuves de S. A. W. et de F. C. Si l'on désire davantage de précision, le protocole appliqué à Kartiack (R. B. T. et test allergique conjoints) peut être retenu : 62 des 64 animaux (97 p. 100) reconnus infectés l'ont été de cette façon.

Bien qu'il n'ait pas donné ici tous les résultats escomptés, le test allergique peut être utilisé seul pour savoir si la brucellose existe dans une région et avoir une indication sur sa prévalence. La brucelline ne donnant pas de réaction chez les animaux non sensibilisés — par certaines vaccinations anti-brucelliques ou par l'infection — l'utilisation des techniques sérologiques devient superflue lorsqu'aucune réaction allergique n'est observée au sein d'une population animale importante en nombre. Des prises de sang fastidieuses peuvent ainsi être évitées.

Le test allergique peut être aussi appliqué aux petits ruminants. La brucelline est injectée chez les ovins par voie sous-cutanée à la paupière inférieure (25) et chez les caprins, par voie intradermique à l'encolure, où les réactions sont très intenses (FENSTERBANK, travaux

personnels). Les résultats sont semblables à ceux observés chez les bovins.

Dans les pays tropicaux où seule une prophylaxie médicale semble pouvoir être envisagée, l'information, présence ou absence de brucellose, est nécessaire et suffisante. Le test allergique peut la donner, en évitant le recours aux épreuves sérologiques.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Ministère français de la Coopération qui a financé notre mission, M. B. DIALLO et les agents techniques du Service de la Santé et des Productions animales, à Bignona, qui l'ont organisée, M. L. SADIO et les habitants de Kartiack pour leur amical accueil et l'intérêt qu'ils nous ont témoigné.

SUMMARY

A study on bovine brucellosis in a low Casamance village (Senegal) Second part : allergic diagnosis

A protein purified allergen for the diagnosis of brucellosis was inoculated intradermally to 388 bovines belonging to a Low Casamance community. Clinical examination and routine serology were carried out conjointly. During this survey, the allergic test elicited less responses than Rose Bengal Test. This difference is explained. Nevertheless, without any blood sampling, the allergic test gave a valuable indication of the prevalence of the disease. For tropical epidemiological surveys, its use is recommended, alone or associated with Rose Bengal Test according to required accuracy.

RESUMEN

Estudio de la brucelosis bovina en una aldea de Baja-Casamance (Senegal). II) Diagnóstico alergico

Se administró por vía intradérmica un alérgeno proteico purificado para el diagnóstico de la brucelosis en 388 bovinos de una aldea de Baja-Casamance.

Se efectuaron conjuntamente el examen clínico y la serología clásica. Los resultados muestran que, durante esta encuesta, la prueba alérgica fue menos precisa que la prueba con Rosa Bengale. Se explica esta discordancia. Sin embargo, la prueba alérgica, que evita las tomadas de muestras de sangre, da una indicación valiosa sobre el predominio de la enfermedad.

Se recomienda su utilización durante estudios epidemiológicos realizados en países tropicales, sola o asociada con la prueba con Rosa Bengale según la precisión buscada.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALAUSA (K. O.), OSOBA (A. O.). *Brucella* seroactivity in Western Nigeria : an epidemiological study. *Trans. r. soc. trop. Med. Hyg.*, 1975, **69** (2) : 259-260.
2. BLANCHARD (A.), COULIBALY (S.). Recherches sur la brucellose bovine en Haute-Volta. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1954, **7** : 153-157.
3. BONGHIBHAT (N.), ELBERG (S. S.), CHEN (T. H.). Characterization of *Brucella* skin-test antigens. *J. infect. Dis.*, 1970, **122** : 70-80.
4. BRINLEY-MORGAN (W. J.), MACKINNON (D. J.), CULLEN (G. A.). The Rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.*, 1969, **85** (23) : 636-641.
5. BURNET (E.). Sur un nouveau procédé de diagnostic de la fièvre méditerranéenne. *C. r. Acad. Sci.*, 1922, **171** : 421-423.
6. CHAMBRON (J.). La brucellose bovine au Sénégal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1965, **18** (1) : 19-38.
7. CHANTAL (J.), FERNEY (J.). La brucellose bovine en Afrique tropicale : quelques aspects cliniques et épidémiologiques. *Rev. Méd. vét.*, 1976, **127** (1) : 19-42.
8. CHANTAL (J.), THOMAS (J. F.). Etude sérologique sur la brucellose bovine aux abattoirs de Dakar. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1976, **29** (2) : 101-108.
9. CORBEL (M. J.). Characterization of antibodies active in the Rose Bengal plate test. *Vet. Rec.*, 1972, **90** (17) : 484-485.
10. CORBEL (M. J.). Studies on the mechanism of the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. *Brit. vet. J.*, 1973, **129** (2) : 157-165.
11. DAVIES (G.). The Rose Bengal test. *Vet. Rec.*, 1971, **88** (17) : 447-449.
12. DIAZ (R.), LEVIEUX (D.). Rôle respectif en sérologie de la brucellose bovine des antigènes et des immunoglobulines G1 et G2 dans les tests d'agglutination, de Coombs et au Rose Bengale, ainsi que dans le phénomène de zone. *C. r. Acad. Sci.*, 1972, **274** : 1593-1596.
13. ESURUOSO (G. O.). Brucellose bovine dans deux états du Sud du Nigéria. II. Incidence et implication de l'infection chez le bétail d'emboûche. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1974, **22** (1) : 37-42.
14. FALADE (S.). *Brucella* agglutinating antibodies in the sera of persons dwelling in Ibadan and the surrounding districts. *J. Niger. vet. med. Ass.*, 1974, **3** (1) : 21-23.

15. FENSTERBANK (R.). Appréciation de la valeur de la réaction au Rose Bengale sur les génisses infectées expérimentalement avec *Brucella abortus*. Rap. n° 109, 41^e Session gén. Com. O. I. E., Paris, 21-26 mai 1973.
16. FENSTERBANK (R.). Diagnostic allergique de la brucellose bovine. 2. Utilisation du test allergique dans les troupeaux infectés. *Annls. Rech. vét.*, 1977, **8** : 195-201.
17. FENSTERBANK (R.), PARDON (P.). Diagnostic allergique de la brucellose bovine. I. Conditions d'utilisation d'un allergène protéique purifié : la brucelline. *Annls. Rech. vét.*, 1977, **8** : 187-193.
18. GAUMONT (R.). Sur le manque de signification des réactions d'agglutination de titre peu élevé en matière de brucellose. *Bull. O. I. E.*, 1965, **63** (7-8) : 1047-1054.
19. GERAL (M. F.), SAURAT (P.), LAUTIE (R.), GANIERE (J. P.), MEIGNIER (B.). Le test au Rose Bengale dans le dépistage sérologique de la brucellose humaine. Etude comparative avec trois autres techniques classiques. *Rev. Méd. vét.*, 1975, **126** (8-9) : 1099-1119.
20. GIDEL (R.), ALBERT (J. P.), LE MAO (G.), RETIF (M.). La brucellose en Afrique occidentale et son influence sur la santé publique. Résultat de 10 enquêtes épidémiologiques effectuées en Côte-d'Ivoire, Haute-Volta et Niger de 1970 à 1973. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1974, **27** (4) : 403-418.
21. GIDEL (R.), ALBERT (J. P.), LE MAO (G.), RETIF (M.). Aspects épidémiologiques de la brucellose humaine en Afrique occidentale. Résultat de 10 enquêtes effectuées en Côte-d'Ivoire, Haute-Volta et Niger. *Annls Soc. Belge Méd. trop.*, 1975, **55** (2) : 65-75.
22. IBRAHIM (A. E.). Milk hygiene and bacteriology in the Sudan. The use of *Brucella* ring-test for the detection of *Brucella abortus* antibodies in the milk of dairy cows. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1973, **21** : 163-166.
23. IBRAHIM (A. E.), HABIBALLA (N.). A survey of brucellosis in Messeriya cows of Sudan. *Trop. anim. Hlth Prod.*, 1975, **7** (4) : 245-246.
24. JONES (L. M.), DIAZ (R.), TAYLOR (A. G.). Characterization of allergens prepared from smooth and rough strains of *Brucella melitensis*. *Brit. J. exp. Pathol.*, 1973, **54** : 1047-1054.
25. JONES (L. M.), MARLY (J.). Titration of *Brucella* protein allergen in sheep sensitized with *Brucella melitensis*. *Annls Rech. vét.*, 1975, **6** : 173-178.
26. KAS'YANOV (N. N.). Signification du diagnostic allergique de la brucellose bovine dans les troupeaux récemment infectés (en russe). *Trudy Vsesoyuz. Ord. Lenina Inst. exper. Vet.*, 1974, **42** : 269-273.
27. LEFEVRE (M.), SIROL (J.), MAURICE (Y.), MONTEIL (J. C.). Contribution à l'étude de la brucellose humaine et animale au Tchad. Isolement de 10 souches humaines sur 12 cas cliniques. Etude d'un foyer de brucellose caprine. *Méd. trop.*, 1970, **30** (4) : 477-488.
28. LEVIEUX (D.). — Immunoglobulines bovines et brucellose. II. Activité des IgG1, IgG2 et IgM du sérum dans les réactions d'agglutination, de Coombs, de fixation du complément et dans le test au Rose Bengale. *Annls Rech. vét.*, 1974, **5** (3) : 343-353.
29. LIVE (I.), STUBBS (E. L.). Intracutaneous brucellosis tests in cattle. *Am. J. vet. Res.*, 1974, **8** : 380-385.
30. MAHLAU (E. A.), HAMMOND (J. A.). A brucellosis survey of the western areas of Tanganyika. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, **10** : 511-516.
31. MERLE (F.). Apparition de la fièvre de Malte au Niger. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1953, **46** (2) : 211-214.
32. M'FADYEAN (J.), STOCKMAN (S.), cité par STOCKMAN. Epizootic abortion. *J. comp. Path.*, 1914, **27** : 237-246.
33. NAGY (L. K.), SORHEIM (A. O.). A survey of *Brucella* infection of cattle in Kenya. *Vet. Rec.*, 1969, **84** (3) : 65-67.
34. NICOLETTI (P.). Utilization of the card test in brucellosis eradication. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 1967, **151** (12) : 1778-1783.
35. NURU (S.). Serological survey of brucellosis in slaughtered cattle in North Central State of Nigeria. *J. Niger. vet. med. Ass.*, 1975, **4** (1) : 9-13.
36. NURU (S.), DENNIS (S. M.). Bovine brucellosis in Northern Nigeria : a serological survey. *J. Niger. vet. med. Ass.*, 1975, **4** (1) : 3-8.
37. OOMEN (L. J. A.), WAGHELA (S.). The Rose Bengal plate test in human brucellosis. *Trop. geogr. Med.*, 1974, **26** (3) : 300-302.
38. OTTOSEN (H. E.), PLUM (N.). A non antigenic allergic agent for intradermal brucellosis tests. *Am. J. vet. Res.*, 1949, **10** : 5-11.
39. PERREAU (P.). La brucellose bovine au Tchad. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1956, **9** : 247-250.
40. PILET (C.), TOMA (B.), ANDRE (G.). Diagnostic sérologique de la brucellose par l'épreuve de l'antigène tamponné (E. A. T.) ou card test. *Cah. Méd. vét.*, 1972, **41** (1) : 5-20.
41. RENOUX (C.), PHILIPPON (A.), PLOMMET (M.). Valeur des faibles titres agglutinants pour le diagnostic de la brucellose bovine. *Bull. Acad. vét. France*, 1968, **41** : 379-381.
42. RENOUX (G.), PLOMMET (M.), PHILIPPON (A.). Microréaction d'agglutination et de fixation du complément pour le diagnostic des brucelloses. *Annls Rech. vét.*, 1971, **2** (2) : 263-269.
43. SACQUET (E.). La brucellose bovine au Tchad. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1965, **8** : 5-7.
44. STROHL (A.). Dépistage de la brucellose. L'antigène Rose Bengale, un progrès pour l'avenir. *Rev. Méd. vét.*, 1974, **125** (12) : 1453-1467.
45. THIMM (B.), NAUWERK (G.). Bovine brucellosis in Guinea and West Africa. *Zentr. Veterinärmed.*, 1974, **21B** (9) : 692-705.
46. THIMM (B.), WUNDT (W.). The epidemiological situation of brucellosis in Africa. Intern. Symp. on brucellosis (II), Rabat, 1975. *Develop. biol. Standard.*, **31** : 201-207. Bâle, S. Karger, 1976.